Lexique

Rev Méd Interne 2000 ; 21 : 304-7

Isoprostanes : nouveaux marqueurs du stress oxydant. Aspects fondamentaux et cliniques

J.L. Cracowski, F. Stanke-Labesque, G. Bessard

Laboratoire de pharmacologie, faculté de médecine, 38706 La Tronche cedex, France

(Reçu le 2 novembre 1999 ; accepté le 25 novembre 1999)

Résumé
Les F2-isoprostanes sont des isomères des prostaglandines F2, produites in vivo par peroxydation radicalaire de l'acide arachidonique. Ces molécules, chimiquement stables, sont produites en quantité abondante en situation clinique de stress oxydant. La quantification des deux isoformes principales (isoprostaglandine F2alpha type-III et VI) dans les liquides et tissus biologiques comme marqueurs de peroxydation lipidique apparaît comme une avancée importante dans l'exploration du rôle du stress oxydant en pathologie humaine. La quantification des F2-isoprostanes comme marqueur intermédiaire semble également intéressante pour le développement de nouvelles thérapeutiques anti-oxydantes. © 2000 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

isoprostanes / stress oxydant

Summary – Isoprostanes: new markers of oxidative stress. Fundamental and clinical data.
A novel family of prostaglandin F2 isomers, called F2-isoprostanes, produced in large quantities in vivo by a free radical peroxidation of arachidonic acid, has recently been described. The quantification of the two major isoforms (isoprostaglandin F2alpha type-III and VI) in biological fluids and tissues as markers of lipid peroxidation appears to be an important advance in our ability to explore the role of free radicals in the pathogenesis of human disease. In addition, F2-isoporstanes quantification seems promising as intermediate endpoints for clinical studies of antioxidant therapies. © 2000 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

isoprostanes / oxidative stress / human diseases

Le stress oxydant est un phénomène impliqué à la fois dans la physiologie du vieillissement et dans de nombreuses pathologies inflammatoires, neurodégénératives ou athéromateuses. Cependant, la mise en évidence de ce phénomène in vivo est limitée par l'absence de marqueurs à la fois sensible, spécifique, de dosage aisé, répétable et non invasif [1].

Récemment, des isomères des prostaglandines F_2, appelés F_2-isoprostanes, produits in vivo par peroxydation radicalaire de l'acide arachidonique ont été décrits [2]. Les F_2-isoprostanes, molécules chimiquement stables, sont produites en quantité abondante dans des situations cliniques de stress oxydant. Des études préliminaires permettent d'envisager leur dosage comme marqueur du stress oxydant dans le cadre de recherches physiopathologiques, mais également en clinique comme marqueur pronostique ou d'évaluation thérapeutique.

MÉCANISMES DE FORMATION

Les F_2-isoprostanes sont produites par l'action de radicaux libres oxygénés sur l'acide arachidonique estérifié, responsable de sa peroxydation. Elles sont libérées par un mécanisme phospholipase-dépendant, circulent dans le plasma

Prostaglandine $F_{2\alpha}$

Isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type III

Isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type VI

Figure 1. *Structure moléculaire de la prostaglandine $F_{2\alpha}$, de l'isoprostane correspondante (iso-prostaglandine $F_{2\alpha}$ type III, également nommée 8-iso-PGF$_{2\alpha}$ ou 15-F_{2t}–IsoP) ; et de l'iso-prostaglandine $F_{2\alpha}$ type VI. Ces deux isoprostanes sont retrouvées en quantité importantes dans les tissus et liquides biologiques.*

sous une forme libre, et sont excrétées dans les urines sous forme native ou métabolisée. Du fait de la répartition ubiquitaire de l'acide arachidonique, la synthèse des F_2-isoprostanes peut survenir dans toutes les membranes cellulaires, au site de production des radicaux libres. La libération de ces composés ne sera par conséquent pas spécifique d'une pathologie, mais du processus oxydatif.

STRUCTURE ET NOMENCLATURE

La caractéristique la plus importante, qui différencie une isoprostane d'une prostaglandine, est la jonction du cycle à cinq carbones avec les deux chaînes latérales : isomérie cis et non trans. Cela signifie que les deux chaînes carbonées sont orientées du même côté par rapport au plan du cycle. Les structures de la prostaglandine F_2 et de son isoprostane correspondante (isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type III) sont représentées sur la *figure 1*. Récemment, une nomenclature a été proposée afin de nommer tous les isoprostanes quel que soit leur *précurseur* [3]. Certains auteurs conservent cependant les anciennes dénominations, et les termes 8-iso-prostaglandine $F_{2\alpha}$ ou 8-epi-prostaglandine $F_{2\alpha}$ peuvent être retrouvés dans de nombreuses publications. Une autre nomenclature a également été proposée par Taber dans laquelle l'iPF$_{2\alpha}$-III est nommée 15-F_{2t}-IsoP [4].

ACTIVITÉ BIOLOGIQUE

Les isoprostanes, en particulier l'isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type III et l'isoprostaglandine E_2 type III possèdent une action biologique à type de vasoconstriction, d'action mitogénique et d'agrégation plaquettaire. Ces actions semblent principalement médiées par la stimulation des récepteurs du thromboxane A_2. L'existence de récepteurs spécifiques aux isoprostanes est possible, mais non démontrée. Une question non résolue est de savoir si les effets biologiques des isoprostanes, observés in vitro, ont une importance en physiologie et physiopathologie humaine.

QUANTIFICATION DES ISOPROSTANES

Deux méthodes permettent de quantifier les isoprostanes dans des liquides biologiques : la spectrométrie de masse et les méthodes immunologiques. Quelle que soit la méthode utilisée, la quantification nécessite une étape initiale de purification de l'échantillon afin d'extraire les composés étudiés, étape critique pour la quantification. Une nouvelle méthode (LC/MS/MS) a récemment été développée, permettant de simplifier la préparation des échantillons.

Les isoprostanes ont été initialement identifiés en utilisant la spectrométrie de masse, méthode sensible et spécifique. Des méthodes de dosage immunologique ont été développées depuis : enzymatiques (Elisa) ou radio-immunologiques. Ces méthodes devraient permettre d'étendre la recherche dans ce domaine en permettant un accès au dosage plus facile. L'isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type III est l'isoprostane la plus fréquemment dosée. Il s'agit en effet d'une molécule stable, présente en quantité plus abondante que les prostaglandines ou thromboxanes dans les liquides biologiques. Parmi les autres isoformes, l'isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type VI est retrouvée en quantité plus abondante que l'isoforme III, permettant un dosage plus facile. Ces dosages peuvent être réalisés dans tous les liquides et tissus biologiques.

Tableau I. Quantification des isoprostanes en pathologie humaine.

Pathologie	*Année*	*Nature du prélèvement*	*Isoprostanes dosés*	*Résultats*
Tabagisme	1995, 1996, 1999	Plasma, urines, prélèvements vasculaires	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Hyperhomocystéinémie	1999	Plasma	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Diabète	1995, 1999	Plasma, urines	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Démences type Alzheimer	1998, 1999	Tissu cérébral, liquide céphalorachidien	$iPF_{2\alpha}$-III et VI	↗
Maladie de Parkinson	1998	Tissu cérébral	$iPF_{2\alpha}$-III et VI	→
Schizophrénie	1998	Tissu cérébral	$iPF_{2\alpha}$-III et VI	→
Cirrhose hépatique	1999	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III et VI	↗
Hépatopathies alcooliques	1999	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III et VI	↗
Hypercholestérolémie	1996, 1997, 1998	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III et VI	↗
Athérosclérose	1997, 1999	Prélèvements d'endartériectomie carotidienne	$iPF_{2\alpha}$-III et VI	↗
Comparaison plaques instables/plaques stables	1999	Prélèvements d'endartériectomie carotidienne	$iPF_{2\alpha}$-III	→
Angor stable	1997	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III	→
Infarctus du myocarde revascularisé (thrombolyse ou angioplastie)	1997	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Circulation extracorporelle	1997	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Rupture d'anévrisme aortique	1999	Plasma	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Insuffisance cardiaque	1998	Liquide péricardique	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
BPCO	1998	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Asthme	1999	Liquide exhalé bronchique	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Pneumopathies interstitielles	1998	Liquide de lavage broncho-alvéolaire	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
SDRA	1998	Liquide exhalé bronchique	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Mucoviscidose	1999	Plasma	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Détresse respiratoire aiguë du nouveau-né	1998	Liquide d'aspiration trachéale	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Sclérodermie	1996	Urines	iPF_2-M	↗
LEAD	1997, 1999	Plasma, urines	$iPF_{2\alpha}$-III, VI	↗
Syndrome des anticorps antiphospholipides	1997	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III, VI	↗
Intoxication au paracétamol	1996	Urines	$iPF_{2\alpha}$-III	↗
Pré-éclampsie	1996	Plasma, urines	$iPF_{2\alpha}$-III	↗ (plasma) ↘ (urines)

BPCO : bronchopneumopathie chronique obstructive, SDRA : syndrome de détresse respiratoire aiguë. LEAD : lupus érythémateux aigu disséminé. $iPF_{2\alpha}$-III : iso-prostaglandine $F_{2\alpha}$ type III (8-iso-prostaglandine $F_{2\alpha}$). $iPF_{2\alpha}$-VI : iso-prostaglandine $F_{2\alpha}$ type VI. iPF_2-M : acide tetranordicarboxylique, métabolite des F_2-isoprostanes. (Références fournies sur demande).

Cependant, une génération artéfactuelle intervient dans tous les prélèvements contenant des membranes cellulaires (plasma, tissus), ce qui nécessite des modalités de prélèvement rigoureuses et contraignantes : congélation dans l'azote liquide immédiatement après le prélèvement, puis conservation à – 80 °C. L'avantage du dosage dans les urines, le liquide céphalorachidien ou dans le liquide exhalé bronchique est la très faible quantité de lipides présents, permettant un recueil avec une conservation simplifiée.

VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

Une étude chez des volontaires sains a mis en évidence l'absence de variation nycthémérale de l'excrétion urinaire de l'isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type III. De plus, les concentrations urinaires ne varient pas selon le régime alimentaire ; mais sont augmentées après 24 heures de jeûne. Les F_2-isoprostanes sont détectables dans tous les liquides biologiques de sujets sains, démontrant l'existence d'un stress oxydant « basal », incomplètement supprimé par les défenses anti-oxydantes. L'excrétion urinaire de F_2-isoprostanes est corrélée avec l'âge [5]. Ces données supportent l'hypothèse d'une augmentation du stress oxydatif au cours du processus normal de vieillissement. Contrairement aux prostaglandines et thromboxanes, il est établi que la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens n'induit pas de diminution de l'excrétion urinaire de ce composé chez l'homme, bien qu'une génération cyclo-oxygénase dépendante puisse être observée expérimentalement.

ISOPROSTANES ET PHYSIOPATHOLOGIE

La majorité des études réalisées à ce jour sont des études physiopathologiques dans lesquelles la quantification des isoprostanes est utilisée comme marqueur de peroxydation lipidique. Les pathologies étudiées et leurs résultats sont indiqués dans le *tableau I*.

PERSPECTIVES CLINIQUES

La quantification des F_2-isoprostanes comme marqueur du stress oxydant ouvre de nombreuses perspectives cliniques.

Au plan physiopathologique, leur quantification permet d'analyser de façon précise le rôle de la génération de radicaux libres en pathologie humaine. Les variations physiologiques de ces composés restent cependant mal connues : les différences selon le sexe, le statut hormonal et l'activité physique n'ont jusqu'à présent pas été étudiées spécifiquement. Par ailleurs, l'intérêt du dosage d'isoprostanes provenant de précurseurs autres que l'acide arachidonique (F_3 et F_4-isoprostanes) reste à évaluer.

Au plan clinique, la corrélation entre le dosage des F_2-isoprostanes et les stades évolutifs de différentes pathologies [6-8] permet d'envisager le dosage des F_2-isoprostanes comme marqueur d'évolutivité. Aucune étude pronostique n'est à ce jour disponible du fait de la nécessité d'un suivi de larges cohortes de patients. Un des problèmes posés actuellement est l'absence de standardisation du dosage entre les différentes méthodes et, pour chaque méthode, l'absence de standardisation des méthodes d'extraction, n'autorisant pas la comparaison des résultats en valeur absolue entre les différentes équipes.

Enfin, l'utilisation des F_2-isoprostanes comme marqueur d'évaluation thérapeutique va se développer dans les années à venir. Du fait des nombreuses données expérimentales suggérant une implication de la génération de radicaux libres oxygénés en physiopathologie humaine, différentes thérapeutiques anti-oxydantes ont été ou sont en cours d'évaluation. Cependant, il n'existe à ce jour pas de données biologiques permettant d'optimiser à la fois les posologies et les associations de thérapeutiques anti-oxydantes employées. Plusieurs études pilotes ont récemment été réalisées. Dans l'hypercholestérolémie, l'administration de vitamine E à la posologie de 100 et 600 mg/j pendant une durée de deux semaines permet une diminution respective de 34 et 58 % de l'excrétion urinaire d'isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type III [9]. De même, chez des sujets diabétiques de type II, la prise de 600 mg/j de vitamine E pendant une durée de deux semaines permet une réduction de 37 % l'excrétion urinaire d'isoprostaglandine $F_{2\alpha}$ type III [10], tandis qu'une diminution de 32 % est observée après un mois de traitement chez des sujets présentant une cirrhose hépatique. La quantification des F_2-isoprostanes comme marqueur intermédiaire paraît particulièrement intéressante pour le développement de nouvelles thérapeutiques anti-oxydantes.

RÉFÉRENCES

1 Moore K, Roberts II LJ. Measurement of lipid peroxidation. *Free Rad Res* 1998 : 28 : 659-71.

2 Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ. A series of prostaglandin F_2-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 9383-7.

3 Rokach J, Khanapure SP, Hwang SW, Adiyaman M, Lawson JA, Fitzgerald GA. Nomenclature of the isoprostanes: a proposal. Prostaglandins 1997 ; 54 : 853-73.

4 Taber DF, Morrow JD, Robert II LJ. A nomenclature system for the isoprostanes. Prostaglandins 1997 ; 53 : 63-7.

5 Wang Z, Ciabattoni G, Créminon C, Lawson J, Fitzgerald GA, Patrono C, et al. Immunological characterization of urinary 8-epi-prostaglandin $F_{2\alpha}$ excretion in man. *J Pharm Exp Therapeut* 1995 ; 275 : 94-100.

6 Ferro D, Basili S, Pratico D, Iuliano L, FitzGerald GA, Violi F. Vitamin E reduces monocyte tissue factor expression in cirrhotic patients. Blood 1999 ; 93 : 2945-50.

7 Mallat Z, Philip I, Lebret M, Chatel D, Maclouf J, Tedgui A. Elevated levels of 8-iso-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ in pericardial fluid of patients with heart failure. Circulation 1998 ; 97 : 1536-9.

8 Pratico D, Basili S, Vieri M, Cordova C, Violi F, Fitzgerald GA. Chronic pulmonary disease is associated with an increase in urinary levels of isoprostane $F_{2\alpha}$, an index of oxidant stress. Am J Respir Crit Care Med 1998 ; 158 : 1709-14.

9 Davi G, Alessandrini P, Mezzetti A, Minotti G, Bucciarelli T, Costantini F, et al. In vivo formation of 8-epi-prostaglandin $F_{2\alpha}$ is increased in hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997 ; 17 : 3230-5.

10 Davi G, Ciabattoni G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, et al. In vivo formation of 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. Circulation 1999 : 99 : 224-9.